

**Über den Transaminase-, Amylase-
und Kallikrein Gehalt von Ratten-
Unterkieferspeicheldrüsen unter
verschiedenen Bedingungen**

Dr. med. dent. Peter Fuchs

1961

**Über den Transaminase-, Amylase-
und Kallikreingehalt von Ratten-
Unterkieferspeicheldrüsen unter
verschiedenen Bedingungen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Dr. med. dent. Peter Fuchs
aus München

München 1961

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. Dr. E. WERLE

Dekan: Professor Dr. W. SEITZ

Tag der mündlichen Prüfung: 10.10.1961



EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	7
--------------------------------------	---

THEORETISCHER TEIL

1. Die Transaminasen	7
a) Wirkungsspezifität	8
b) Vorkommen	8
c) Das Co-Enzym	8
2. Die Amylasen	9
a) α - und β -Amylasen	9
b) Vorkommen	9
3. Das Kallikrein	9
a) Chemie und Pharmakologie	10
b) Vorkommen	10

VERSUCHSPLAN 10

EXPERIMENTELLER TEIL

1. Versuchsbeschreibung	11
A. ALLGEMEINES	11
B. HERSTELLUNG DER DRÜSENHOMOGENATE	11
C. SPEZIELLE VERSUCHSBESCHREIBUNG	12
a) Bestimmung der Transaminasen	12
b) Bestimmung der Amylase	12
c) Bestimmung des Kallikreins	13
2. Versuchsergebnisse	
I. UNTERSUCHUNG DES FERMENTGEHALTES IN NORMALEN DRÜSEN. BESTIMMUNG DER NORMALEN AUSGANGSWERTE	15
a) Versuchsanordnung	15
b) Untersuchungsbefunde	15
c) Erläuterung der Befunde bei Normaltieren	15

II.	UNTERSUCHUNGEN DES FERMENTGEHALTES VON DRÜSEN SCHEINOPERierter TIERE	16
	a) Versuchsanordnung	16
	b) Untersuchungsergebnisse	16
	c) Erläuterung der Befunde	16
III.	UNTERSUCHUNG DES FERMENTGEHALTES IN SUB- MANDIBULARISDRÜSEN ZU VERSCHIEDENEN ZEIT- TEN NACH UNTERBINDUNG DES DUCTUS WHARTO- NI	16
	a) Versuchsanordnung	16
	b) Untersuchungsbefunde	17
	c) Erläuterung der Befunde	17
	d) Diskussion der Befunde	18
IV.	UNTERSUCHUNG VON DRÜSEN, DEREN AUSFÜH- RUNGSGANG NUR VORRÜBERGEHEND UNTERBUNDEN WAR	18
	a) Versuchsanordnung	18
	b) Untersuchungsbefunde	20
	c) Erläuterung der Befunde und Diskussion	21
V.	ZUGABE VON CO-FERMENT ZU DRÜSENHOMOGENA- TEN UNTERBUNDENER DRÜSEN	23
	a) Versuchsanordnung	23
	b) Versuchsergebnisse	23
	c) Erläuterung der Befunde und Diskussion	23
VI.	UNTERSUCHUNGEN DER FERMENTAKTIVITÄT BEI RATTEN WÄHREND EINER HUNGERPERIODE UND NACH ANSCHLIESSENDER FÜTTERUNG	24
	a) Versuchsanordnung	24
	b) Versuchsergebnisse	24
	c) Erläuterung der Befunde	24
	d) Diskussion	24

VII.	UNTERSUCHUNG DER FERMENTAKTIVITÄT IN DER UNTERKIEFERSPEICHELDRÜSE NACH INJEKTION EINER SEKRETIONSFÖRDERNDEN SUBSTANZ.....	25
a)	Versuchsanordnung	25
b)	Versuchsergebnisse	25
c)	Erläuterung der Befunde	26
d)	Diskussion	26
VIII.	UNTERSUCHUNG DER FERMENTAKTIVITÄT NACH IN- JEKTION EINER SEKRETIONSHEMMENDEN SUBSTANZ...	29
a)	Versuchsanordnung	29
b)	Versuchsergebnisse	29
c)	Erläuterung der Befunde	29
d)	Diskussion	30
IX.	UNTERSUCHUNG DER FERMENTAKTIVITÄT NACH IN- JEKTION HOHER DOSEN EINER SEKRETIONSHEMMENDEN SUBSTANZ	30
a)	Versuchsanordnung	30
b)	Versuchsergebnisse	32
c)	Erläuterung der Befunde	32
d)	Diskussion	32
3.	ZUSAMMENFASSUNG	34
	LITERATURVERZEICHNIS	36
	LEBENS LAUF	39

EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

In einer früheren Untersuchung von Werle, Vogel und Lentrodt (1) wurde festgestellt, daß nach Unterbindung des Ausführungsganges der Unterkieferspeicheldrüse bei Ratten der Kallikreingehalt der Drüse, noch bevor histologische Veränderungen an der Drüse erkennbar sind, absinkt.

Es sollte im Rahmen dieser Arbeit untersucht werden, ob mit gleicher Geschwindigkeit auch die Aktivität von Fermenten der Speicheldrüsen abnimmt. Zur Prüfung dieser Frage wurde ein Ferment gewählt, das wie das Kallikrein in den Speichel sezerniert wird und das markanteste Ferment des Speichels darstellt, nämlich die Amylase; weiterhin zwei Fermente des intermediären Stoffwechsels der Drüse und zwar die Transaminasen GOT und GPT.

THEORETISCHER TEIL

1.) Die Transaminasen

a) Wirkungsspezifität

Die Transaminasen sind Fermentsysteme, die in den Geweben eine Reaktion katalysieren, in deren Verlauf die Aminogruppe von α -Aminokarbonsäuren auf α -Ketokarbonsäuren übertragen wird. Die Umwandlung Aminosäure $\rightarrow$ Ketosäure wurde schon früh von Neubauer und Knoop (2,3) beobachtet. Daß diese Umwandlung ohne Auftreten von freiem Ammoniak stattfinden kann, wurde erstmals von Needham (4) festgestellt.

Diese reversible enzymatische Reaktion wurde vor 20 Jahren von Braunstein und Kritzmann (5) als intermolekulare Überführung von Aminogruppen aufgefaßt und beschrieben. Die Reaktion wurde von ihnen als Umaminierung und die beteiligten Enzyme als Aminopherasen bezeichnet. Später hat sich die von Cohen (6) vorgeschlagene Bezeichnung Transaminase durchgesetzt.

Die erste von Braunstein und Kritzmann beschriebene Transaminierung war die von Glutaminsäure auf Brenztraubensäure.(7)

Man nahm längere Zeit an, daß eine Transaminierung nur in diesem System und im System Glutaminsäure-Oxalelessigsäure stattfindet. Diesen beiden Enzymen wurde bisher die größte Aufmerksamkeit gewidmet, obwohl sich allmählich herausgestellt hat, daß wahrscheinlich alle natürlichen Aminosäuren enzymatisch mit Ke-

toglutarsäure, vielleicht auch mit vielen anderen Ketosäuren reagieren, bzw. aus den ihnen entsprechenden Ketosäuren durch Transaminierung mit Glutaminsäure gebildet werden können. (8, 9)

Die Glutaminat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) überträgt die NH_2 -Gruppe der Asparaginsäure auf die α -Ketoglutarsäure, wobei Glutaminsäure und Oxallessigsäure entstehen. Die Glutaminat-Pyruvat-Transaminase (GPT) katalysiert die Übertragung der NH_2 -Gruppe des Alanins auf die α -Ketoglutarsäure, so daß Glutaminsäure und Brenztraubensäure entstehen.

b) Vorkommen

Die höchste Aktivität der genannten Transaminasen besitzen Herz- und Skelettmuskel, Leber, Gehirn und Nieren. (10, 11)

Eine klinische Bedeutung erwarben die Transaminasen, als man ihre Aktivität im Blut und Gewebe quantitativ bestimmen konnte. (12) Eine Zunahme der Aktivität eines Enzyms in einem Organ könnte die Folge einer gesteigerten Beanspruchung des Enzyms im Stoffwechselgeschehen sein. Eine Abnahme wird man dann erwarten, wenn es zum Abstrom von Enzymen aus nekrotischem oder permeabilitätsgeschädigtem Gewebe in die Blutbahn kommt, dementsprechend kann die Konzentration des betreffenden Enzyms im Serum erhöht sein.

Im Jahre 1954 stellten La Due, Wroblewski und Karmen fest, daß es im Blutserum zur Erhöhung der GOT beim Myocardinfarkt (13) kommt und ein Jahr später wurde dies auch bei bestimmten Lebererkrankungen entdeckt. (14, 15, 16, 17, 18) In der letzten Zeit hat man bei Leberaffektionen auch eine höhere Aktivität der GPT im Serum festgestellt. (14, 19, 20)

c) Das Co- Enzym

Das Co-Enzym der Transaminasen ist das Pyridoxal-5-phosphat. Schlenk und Snell (21) stellten fest, daß die Gewebe pyridoxinfrei ernährter Ratten eine sehr niedrige Transaminaseaktivität besitzen. Etwa gleichzeitig wurde gefunden (22), daß pyridoxinfrei gezüchtete Kulturen von *Streptokokkus faecalis* kein Transaminierungsvermögen aufwiesen. Wurde zu den Kulturen Pyridoxalphosphat zugegeben, so trat Transaminasewirkung auf.

Weitere Arbeiten bewiesen ebenfalls, (23) daß das Pyridoxalphosphat das Co-Enzym der Transaminasen darstellt. Derselbe Stoff ist auch das Co-Enzym der Aminosäuren-Dekarboxylasen.

2.) Die Amylasen

Schon vor über hundert Jahren wurde von Leuchs (24) festgestellt, daß Speichel Stärkekleister verflüssigt, wobei Zucker entsteht. Kurze Zeit später stellten Payen und Persoz (25) aus Malz eine Substanz her, die die Hüllen von gequollenen Stärkekörnern vom Inhalt trennte und deswegen Diastase genannt wurde. Mit diesen Arbeiten begannen die Untersuchungen über stärke-spaltende Enzyme, die man heute als Amylasen bezeichnet.

a) α - und β -Amylasen

Der enzymatische Abbau der Kohlenhydrate stellt ein Beispiel für das Zusammenwirken mehrerer Fermente dar. Unter Amylase ist kein Spezialferment, sondern ein Fermentgemisch zu verstehen. Mit Sicherheit lassen sich zwei Fermente, die α - und β -Amylasen charakterisieren. Aber nicht nur die Enzyme, auch das Substrat die Stärke trägt dazu bei, die Kinetik des Abbaus zu komplizieren. Meyer (26, 27) stellte fest, daß die Stärke keine einheitliche chemische Substanz ist, sondern aus Gruppen von Polysacchariden besteht, die in ihrer Konstitution und ihrem physikalisch-chemischen Verhalten erheblich voneinander abweichen.

b) Vorkommen

Die β -Amylasen (28) setzen Maltose in der niedrig drehenden β -Form in Freiheit. Sie greifen die Polysaccharide der Stärke von den nicht aldehydischen Enden aus an (29) und bilden dabei sofort Maltose. Sie finden sich nur in Pflanzen. Die α -Amylasen, so genannt, weil die freien Aldehydgruppen in der hochdrehenden α -Form in Freiheit gesetzt werden, spalten die Polysaccharide zunächst in größere Bruchstücke, dann in Oligosaccharide, Maltose und Glukose (30).

Die Amylasen der Säugetiere gehören der α -Gruppe an. In tierischen Zellen kommt nach Willstätter und Rohdewald (31, 32) Amylase in verschiedenen Zelltypen in verschiedenen Zuständen vor; und zwar als Lyo- Desmo- und Endoenzym. Mit Ausnahme des Pankreas, das fast nur eine Lyoamylase enthält, finden sich in den anderen Organen, wie Leber und Speicheldrüse, Vertreter der verschiedensten Amylasen, dh. Gemische der isodynamen Enzyme.

Lesser (33) hat die Sekretion der Parotis der Maus eingehend studiert und einen großen Reichtum an Amylase festgestellt, der das 600-4000 fache des zugehörigen Blutserumwertes beträgt. In den übrigen Speicheldrüsen ist nur eine geringere Menge dieses Enzyms enthalten. Untersuchungen über den Amylasegehalt der Speicheldrüsen der Ratte wurden von Schneyer (34, 35) veröffentlicht; danach ist in der ruhenden Drüse der Amylasegehalt geringer als der zugehörige Blutserumwert.

3. Das Kallikrein

a) Chemie und Pharmakologie

Das Kallikrein ist eine hochmolekulare, thermolabile Substanz mit amphoterem Charakter, die erstmalig von Kraut, Frey und Werle (36) in großen Mengen im Pankreas nachgewiesen wurde. Die chemische Struktur ist bis heute noch nicht geklärt. Im Kallikreinmolekül sind Aminogruppen und phenolische Hydroxylgruppen als funktionell wichtig festgestellt worden. Kallikrein ist unlöslich in organischen Lösungsmitteln, und löst sich nur in Wasser, verdünntem Alkohol oder verdünntem Azeton. Durch seine Unbeständigkeit, - es ist gegen pH Verschiebungen, Hitze, Oxydationsmittel und Bestrahlung mit ultraviolettem Licht sehr empfindlich-, unterscheidet es sich von den meisten Hormonen und gleicht den Fermenten. (37)

Kallikrein bewirkt bei intravenöser Injektion eine Senkung des mittleren Blutdrucks.

Die Erweiterung der Blutgefäße betrifft in erster Linie die Arteriolen und Kapillaren, während die größeren Gefäße unbeeinflusst bleiben (38). Es kommt zur vermehrten Durchblutung von Herz, Haut, Muskeln, Gehirn und Lunge (39, 40, 41) und zur verminderten Durchblutung des Splanchnicusgebietes. Unter der Wirkung des Kallikreins wird also die Blutverteilung im Körper verändert.

b) Vorkommen

Die Hauptproduktionsstätte des Kallikreins ist nach Frey (42), Kraut, Werle und Schulz (36) das Pankreas. Im Pankreas wird es in einer inaktiven Vorstufe, als Kallikreinogen, angetroffen. Im Duodenum wird es durch Berührung mit Trypsin (43) aktiviert. Das Pankreas ist aber nicht die einzige Produktionsstätte des Kallikreins; es kommt in großen Mengen in den Speicheldrüsen (44, 45, 46), vorallem in der glandula submandibularis vor und wird in den Speichel sezerniert. Im Gegensatz zum Pankreas kommt das Kallikrein in den Speicheldrüsen nur in der aktiven Form vor. Es wird beim Passieren des Magens durch die Säure zerstört, dh. es verliert seine Gefäßwirkung.

VERSUCHSPLAN

1. Nach der Ermittlung von Normalwerten für Kallikrein, Amylase und Transaminasen in Unterkieferspeicheldrüsen von Ratten sollten Scheinoperationen
2. klären, ob der Operationeingriff als solcher Veränderungen in den zu untersuchenden Größen nach sich zieht. (3)
3. Dann sollte das Verhalten der Fermente bei Unterbindung des ductus Whartoni geprüft werden. Weiterhin sollte untersucht werden, wie lange der Ausführungsgang unterbunden bleiben kann, ohne daß es zu einer irreversiblen Schädigung der Drüse und damit der Fermentproduktion kommt.
4. Gegebenenfalls sollte festgestellt werden, ob der Aktivitätsabfall bei den Transaminasen durch einen Mangel an Fermentprotein oder an Co-Ferment, nämlich Pyridoxalphosphat, entsteht. In letzterem Fall war zu erwarten, daß bei Zugabe von Pyridoxalphosphat die Aktivität der Drüsenhomogenate zunimmt. Dazu war in Versuchen mit normalen Drüsenhomogenaten noch festzustellen, ob die Apoenzyme der Transaminasen physiologischer Weise mit Co-Ferment abgesättigt sind; ob also nach Zusatz von Pyridoxalphosphat die Aktivität der GOT und GPT unverändert bleibt oder nicht.
5. Weiterhin sollte untersucht werden, inwieweit Hungern und nachfolgende Fütterung sich auf die Konzentration von Kallikrein und den genannten Enzymen auswirken.
3. Schließlich sollte geklärt werden, ob sich die Fermentaktivität in der Speicheldrüse nach Injektion sekretionshemmender bzw. sekretionsfördernder Substanzen ändert.

EXPERIMENTELLER TEIL

1. Versuchsbeschreibung

A. ALLGEMEINES

Wir benutzten für unsere Versuche ausschließlich Ratten weiblichen Geschlechts, möglichst gleicher Größe und gleichen Alters.

Auerbach und Waisman (47) haben festgestellt, daß Alter und Geschlecht der Tiere die Enzymaktivität in Speicheldrüsen beeinflussen; im Alter nimmt die Aktivität zu; bei männlichen Tieren ist sie niedriger als bei weiblichen.

Wir führten unsere Versuche an der Glandula submandibularis durch, die relativ leicht zu präparieren war, so daß wir uns auf einen kleineren Eingriff beschränken konnten. In Äthernarkose wurden die Tiere in Rückenlage auf dem Operationstisch befestigt. Nach einem medianen Hautschnitt wurde die Glandula submandibularis der linken bzw. der rechten Seite anhand der Darstellungen von Farris und Griffeth und von Ellenberger-Baum (48, 49) aufgesucht und stumpf freipräpariert.

Nach Darstellung der Drüse mit ihren Gefäßen erfolgte entweder die Entfernung oder die Unterbindung des Ausführungsganges mit einem Seidenfaden unter Anlegung eines chirurgischen Knotens.

Bei den Versuchen, bei denen wir den Ausführungsgang eine bestimmte Zeit unterbunden und dann wieder geöffnet haben, wurde die Ligatur mit einer Metallklammer durchgeführt.

Das Organ wurde dann reponiert und die Wunde mit Seidenfäden verschlossen. In die Wunde gaben wir Marbadalpuder. Äußerlich legten wir einen Plastikverband (Novicutan) an. Der postoperative Heilungsverlauf war von wenigen Ausnahmen abgesehen komplikationslos. Bei der entgeltigen Entfernung der Drüse verfahren wir wie beschrieben und töteten die Tiere anschließend durch eine Überdosis Äther. Die gewonnenen Drüsen wurden entweder sofort weiterverarbeitet oder bei -15°C eingefroren. Von der Entfernung der Drüse bis zur Weiterverarbeitung vergingen maximal 24 Stunden.

B. HERSTELLUNG DER DRÜSENHOMOGENATE

Die Speicheldrüsen wurden von allem anhaftendem Bindegewebe befreit und genau gewogen. Dann wurden sie in einem Achatmörser mit gereinigtem Seesand verrieben. Das Homogenat stellten wir mit dem 10-fachen Volumen aqua bidest. her und extrahierten 30 min. im Eiswasserbad. Anschließend wurde das Homogenat 15 min. bei 6000 U/min. zentrifugiert. Der Überstand wurde dann abgossen und anschließend weiterverarbeitet oder bei -15°C eingefroren.

C. SPEZIELLE VERSUCHSBESCHREIBUNG

a) Bestimmung der Transaminasen (GOT, GPT)

Die Transaminasen werden anhand ihrer spezifischen Aktivität unter genau festgelegten Standardbedingungen quantitativ bestimmt. Diese Aktivitätsmessung bedeutet aber praktisch die Bestimmung der Fähigkeit eines Enzyms, eine festgelegte Menge eines spezifischen Substrates pro Zeiteinheit umzusetzen (Umsatzfähigkeit). Als besonders geeignet für derartige Messungen haben sich die durch Warburg eingeführten optischen Fermentteste erwiesen.

Grundlage der enzymatischen, optischen Tests ist die Lichtabsorption eines der an der Reaktion teilnehmenden Co-Enzyme oder Substrate. Die Absorption des reduzierten Diphosphorpyridinnucleotids (DPN-H) mit Maximum bei 340 m μ wird am häufigsten für solche Messungen herangezogen. Der Absorptionskoeffizient ist $6,22 \times 10^6 \text{ cm}^2 / \text{Mol.}$, dh. 1 $\mu\text{Md} = 663 \mu\text{ DPN}$ in 1 ml gelöst, schwächt nach Reduktion das Licht der Wellenlänge 340 m μ auf einem Weg von 1 cm (Schichtlänge) um einen bestimmten Betrag (6,22) ab. Mißt man mit Photometern, deren Filter die Quecksilberlinie 366 m μ isolieren, ist der Extinktionskoeffizient nur etwa einhalb so groß. Demnach betragen die Meßwerte nur etwa die Hälfte.

Da DPN in der oxydierten Form (DPN⁺) im Wellenbereich 300-400 m μ keine Absorption zeigt, können Enzymreaktionen, deren Reaktionsprodukt in einer DPN abhängigen Enzymreaktion bestimmbar ist, durch Abnahme der Extinktion bei 366 m μ mit dem UV-Photometer verfolgt werden. Bei der Bestimmung der Aktivität von Enzymen mißt man, wie erwähnt, die Geschwindigkeit des Substratumsatzes, hierbei wird unter Substrat- und Co-Enzymüberschuß gearbeitet. Bei dem von uns durchgeführten GOT- und GPT- Test definieren wir nach den Angaben von Wroblewski:

Eine Einheit (E) ist die Enzymmenge, die bei 25° C die DPN-H Extinktion bei 340 m μ in 1 min. in 3 ml Ansatz um 0,001 ändert (bezogen auf 1 ml Serum und die 10 mm Küvette).

Im einzelnen haben wir die Untersuchungen der Transaminasenaktivität (GOT, GPT) mit den "Testkombinationen" der Firma C.F.Boehringer, Mannheim durchgeführt.

b) Bestimmung der Amylase

Zur Bestimmung der Amylase werden in der Literatur die verschiedensten Methoden angegeben (50). Wir haben die von Noelting und Bernfeld verwendet, die von Sumner verbessert worden ist (51, 52).

Methodik: 1 ml Enzym und 1 ml Stärkelösung läßt man 10 min bei Zimmertemperatur reagieren. Die Reaktion wird mit 2 ml 3,5 Dinitrosalicylsäurereagenz unterbrochen. Dann wird das Reaktionsgemisch 5 min in ein kochendes Wasserbad gestellt und anschließend rasch abgekühlt. Zu jedem Ansatz gibt man 20 ml aqua bidest. Die Extinktion wird mit dem Photometer bei 546 m μ gemessen. Als

12

Blindwert pipettiert man nacheinander 1 ml aqua bidest. . 1 ml Stärkelösung.
2 ml 3,5 Dinitrosalicylsäure in die Küvette.

Herstellung der Stärkelösung: 1 g lösliche Stärke wird in 20 - 30 ml warmem Wasser gelöst und zusammen mit 30 ml m/15 Phosphatpuffer (pH 6,9) und 10 ml m/15 Kochsalzlösung mit aqua bidest. auf 100 ml aufgefüllt.

Herstellung des Dinitrosalicylsäurereagens: 1 g Dinitrosalicylsäure wird mit 20 ml 2n Natronlauge in 50 ml Wasser gelöst. Nach Zugabe von 30 g Seignettesalz wird auf 100 ml aqua bidest. aufgefüllt. Das Reagenz wird mit einem Gummistopfen gegen CO₂ Aufnahme geschützt.

Bestimmung der Eichkurve: eine 0,4% Maltoselösung wird in aufsteigender Konzentration mit jeweils 2 ml 3,5 Dinitrosalicylsäurereagenz angesetzt. Das Reaktionsgemisch wird dann entsprechend der oben beschriebenen Versuchsanordnung weiterbehandelt. Die Extinktion wird bei 546 mμ gemessen.

0,25 ml Maltoselsg.	+ 1,75 ml H ₂ O	+ 2 ml Reagenz	0,150 (Extink.)
0,5 ml "	+ 1,5 ml "	+ 2 ml "	0,300 "
1,0 ml "	+ 1,0 ml "	+ 2 ml "	0,595 "
1,5 ml "	+ 0,5 ml "	+ 2 ml "	0,925 "
2,0 ml "	+	+ 2 ml "	1,260 "

Blindwert: 2,0 ml H₂O + 2 ml Reagenz

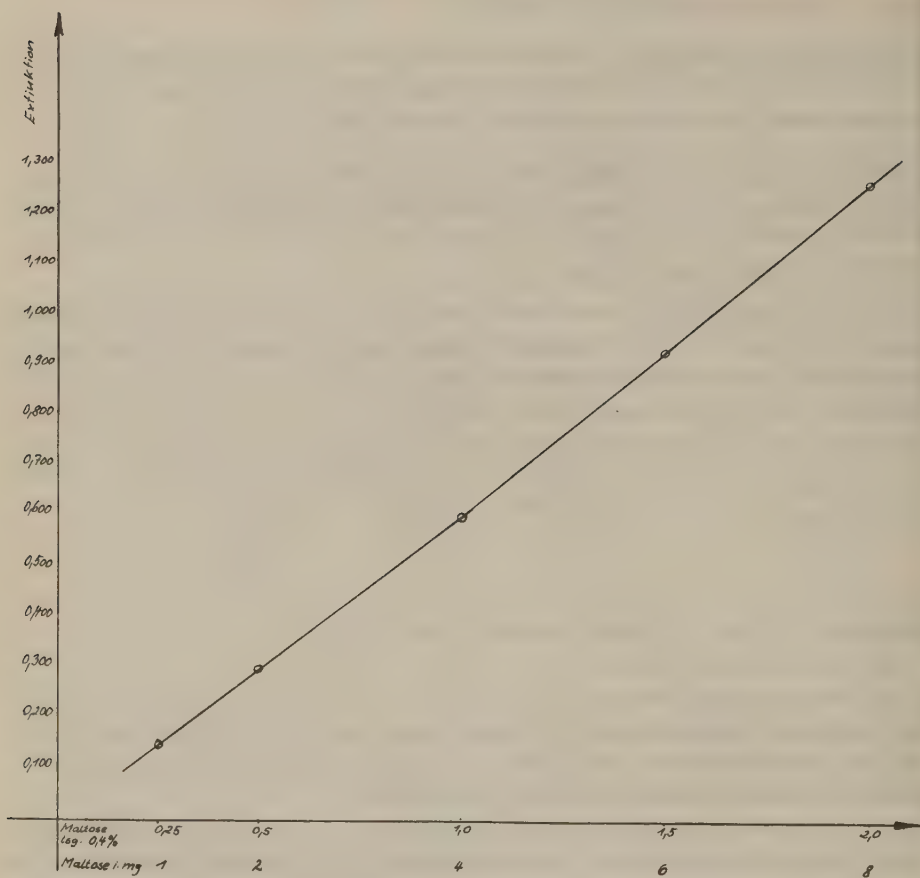
c) Bestimmung des Kallikreins

Zur Testung der Homogenate auf Kallikrein verwendeten wir Hunde als Versuchstiere, da sie für Kallikreininmessungen sehr empfindlich sind und auch auf wiederholte Gaben von Kallikrein gleichmäßig ansprechen.

Die Tiere wurden mit einer subcutanen Injektion von 0,1 ml einer 2% Morphinlösung pro kg Körpergewicht zur Narkose vorbereitet. Anschließend wurden sie nach der von Rein und Schneider (53) angegebenen Methode mit Pernocton narkotisiert. Zur Blutdruckmessung schlossen wir an die Carotis des intubierten und künstlich beatmeten Tieres ein Ludwig'sches Quecksilbermanometer an. Als gerinnungshemmende Sperrflüssigkeit verwendeten wir eine 20% Magnesiumsulfatlösung. Die Einspritzungen erfolgten durch eine Kanüle, die in die vena saphena an der Innenseite des Oberschenkels eingebunden war.

Bei den Versuchen verabreichten wir dem Hund vor der Testung 1 ml einer 0,1% Atropinsulfatlösung pro 10 kg Körpergewicht iv. Dadurch erreichten wir, daß die blutdrucksenkende Wirkung des Kallikreins nicht durch andere kreislaufaktive Stoffe, insbesondere Acetylcholin gestört wurde.

Die iv. Injektion von 0,1 KE/kg verursacht bei einem so vorbereiteten Tier eine Verringerung des mittleren Blutdruckes um durchschnittlich 5-10 mm Hg. Die Druckerniedrigung setzt 5-10 Sekunden nach Beginn der Injektion ziemlich plötzlich ein und erreicht 5-20 Sekunden nach Beginn der Wirkung ihren tiefsten Punkt. Nach



Eichkurve zur Amylaseaktivitätsbestimmung

etwa 5 Minuten ist der Ausgangswert wieder erreicht. Da bei größeren Dosen der Blutdruck sehr viel langsamer auf seine ursprüngliche Höhe zurückkehrt (10-30 min), haben wir bei der Testung unserer Homogenate die Verdünnungen so gewählt, daß keine übermäßige Beeinflussung des Blutdrucks eintrat, und die Ausgangslage nach kurzer Zeit wieder erreicht war.

2. Versuchsergebnisse

I. UNTERSUCHUNG DES FERMENTGEHALTES VON NORMALEN DRÜSEN BESTIMMUNG DER NORMALEN AUSGANGSWERTE

a) Versuchsanordnung

Es wurde die Transaminaseaktivität der beiden Unterkieferspeicheldrüsen von 8 intacten Tieren, die normale Kost erhalten hatten, bestimmt. Die Drüsen wurden in leichter Äthernarkose entnommen.

b) Untersuchungsbefunde

Drüsenge- wicht i. mg	GOT(E/g)	GPT(E/g)	Kallikrein(KE/g)
483	28728	4077	800
208	26082	6600	1600
203	26082	6930	- -
327	32886	8560	1700
321	34020	7400	1600
245	37800	5480	1000
266	46500	9740	2000
225	35900	4610	- -
Mittelwert aus 8 Messun- gen:	33499 $\pm$ 2270	6680 $\pm$ 681	1450 $\pm$ 226

Die Amylaseaktivität untersuchten wir an 4 Tieren, die wir ebenfalls nach Entfernung der Unterkieferspeicheldrüse töteten.

Drüsenge- wicht i. mg	Amylase-Aktivität		Kallikrein(KE/g) gehalt
	mg gespalt. Maltose	Extinktion	
200	0,950	0,146	1500
200	0,750	0,110	1300
292	1,350	0,205	2000
312	1,600	0,239	2000
Mittelwert aus 4 Messun- gen:	0,912 $\pm$ 0,238		1700 $\pm$ 152

c) Erläuterung der Befunde bei Normaltieren

Entsprechend den Ergebnissen von Werle und von Roden (44) und Werle, Vogel und Lentrodt (1) haben wir in normalen Drüsen einen sehr hohen Kal-

likreingehalt feststellen können. Die Drüsen besitzen auch einen hohen Gehalt an Transaminase. Die Kallikreinwerte lagen bei 1450 ± 226 (KE/g), schwankten also in relativ engen Grenzen. Die Transaminasewerte lagen bei 33499 ± 2270 (GOT) und 6680 ± 681 (GPT), gemessen in E/g, und hatten demnach ebenfalls eine verhältnismäßig geringe Schwankungsbreite. Das gleiche gilt für die Amylasewerte. Hier betrug der Mittelwert $0,912 \pm 0,238$, gemessen in mg gespaltener Maltose pro ml Ansatzlösung.

II. UNTERSUCHUNGEN DES FERMENTGEHALTES VON DRÜSEN SCHEINOPERierter TIERE

a) Versuchsanordnung

Da wir mit der Möglichkeit rechnen mußten, daß bei den Versuchen mit Abbindung der glandula submand. das Operationstrauma zusätzlich die Aktivität der Fermente beeinflussen würde, haben wir an 6 Tieren Scheinoperationen durchgeführt, wobei wir den Operationsverlauf nachahmten, ohne aber die Drüse zu unterbinden. Nach 3 Tagen entfernten wir die Drüsen und untersuchten sie.

b) Untersuchungsergebnisse

Drüsengewicht i. mg	GOT(E/g)	GPT(E/g)	Kallikrein(KE/g)
211	48800	5670	2000
171	31650	4720	2400
146	31650	4720	2200
145	20780	3020	1600
124	38800	3890	2600
149	31400	3850	2400
Mittelwert:	33346 ± 3930	4310 ± 328	2200 ± 140

c) Erläuterung der Befunde

Wir konnten feststellen, daß die Fermentaktivität manipulierter Drüsen im Vergleich zu normalen Drüsen nicht wesentlich verändert ist. Lediglich ist der Kallikreingehalt "manipulierter" Drüsen gegenüber dem von normalen Drüsen erhöht.

III. UNTERSUCHUNG DES FERMENTGEHALTES IN SUBMANDIBULARIS- DRÜSEN ZU VERSCHIEDENEN ZEITEN NACH UNTERBIN- DUNG DES DUCTUS WHARTONI

a) Versuchsanordnung

Die Drüse wurde freigelegt und der Ausführungsgang unter Anlegung eines doppelten chirurgischen Knotens unterbunden. Anschließend wurde die Drüse reponiert. In das Wundbett streuten wir Marbadal-Puder. Dann wurde die Wunde mit einzelnen Seidenfäden verschlossen und mit einem Plastikverband bestrichen. Der postopera-

tive Heilungsverlauf war, von wenigen Ausnahmen abgesehen, die bei der Auswertung unserer Versuchsergebnisse keine Berücksichtigung fanden, komplikationslos. Nachdem die Drüse entsprechend lange (1-10 Tage) unterbunden war, entfernten wir sie und auch jeweils die Drüse der nicht unterbundenen Seite. Anschließend wurden die Versuchstiere getötet.

b) Untersuchungsbefunde

Transaminase und Kallikreinwerte

Drüsenge- wicht i. mg	Dauer d. Abbindg.	GOT(E/g)	GPT(E/g)	Kallikrein (KE/g)
439 (156)	1	20790 (41800)	3020 (4380)	500 (1200)
480 (438)	1	21546 (34398)	3330 (4600)	450 (1000)
410 (338)	2	22680 (44900)	2800 (5280)	450 (1850)
359 (161)	2	19100 (49200)	3140 (4370)	900 (1200)
205 (176)	3	18530 (49200)	2330 (5333)	100 (1600)
224 (223)	3	18150 (29100)	2500 (3140)	100 (1500)
201 (250)	4	22300 (37840)	2270 (3890)	100 (1600)
156 (168)	4	20800 (29150)	2140 (3130)	100 (1400)
229 (476)	10	13041 (32100)	793 (3400)	100 (1700)
260 (310)	10	15600 (30120)	1180 (4150)	100 (1300)

(In Klammern gesetzt jeweils die Werte der nicht unterbundenen Drüse)

Amylasewerte

Drüsenge- wicht i. mg	Dauer d. Abbindg.	Amylaseaktivität		Kallikrein(KE/g) gehalt
		mg gespalt. Maltose	Extinktion	
265 (174)	1	0,950 (0,951)	0,145 (0,147)	200 (1500)
252 (221)	2	0,500 (0,775)	0,077 (0,177)	160 (1600)
265 (193)	3	1,100 (1,250)	0,165 (0,190)	250 (1400)
258 (179)	4	1,750 (1,200)	0,258 (0,179)	300 (1200)
249 (233)	5	0,650 (0,800)	0,100 (0,123)	100 (1400)
285 (171)	6	0,650 (0,500)	0,100 (0,080)	100 (- -)

(In Klammern jeweils die Werte der nicht abgebundenen Drüse)

c) Erläuterung der Befunde

Wir haben bei der tabellarischen Übersicht jeweils hinter den Werten, die wir bei der Untersuchung der unterbundenen Drüsen erhalten haben, die Werte der nicht unterbundenen Drüsen in Klammern angefügt. Die Versuche, bei denen wir die Aktivität der Amylase in unterbundenen Drüsen untersucht haben, mußten getrennt durchgeführt werden, da bei unserer Arbeitsweise die Bestimmung aller Enzyme aus einer einzigen Drüse nicht möglich war. Um den Vergleich der Werte zu er-

leichtern, haben wir in jedem Fall die Untersuchung des Kallikreingehaltes der Drüsen durchgeführt.

d) Diskussion der Befunde

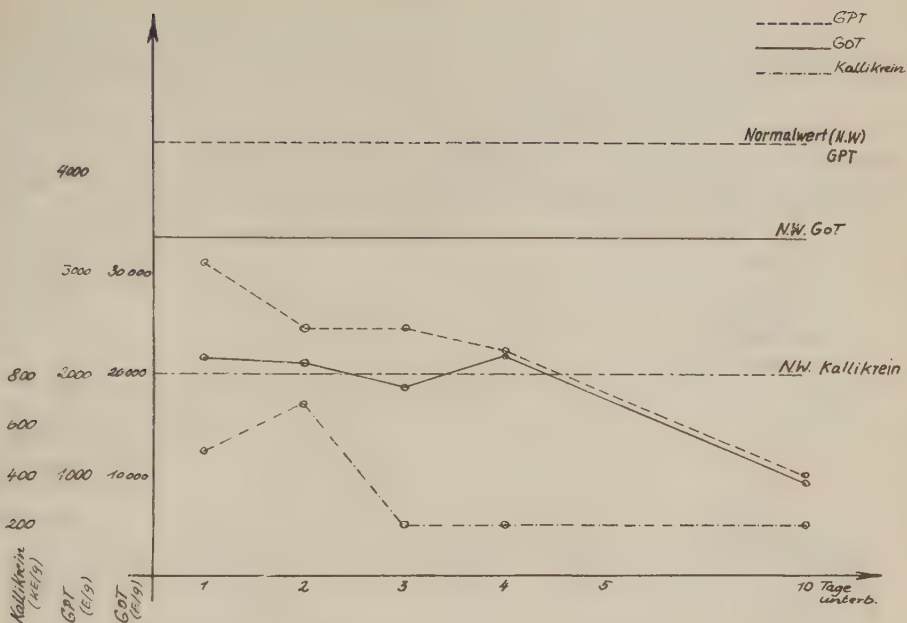
Wie Werle, Vogel und Lentrodt (1,54) mitgeteilt haben, ist der Kallikreingehalt der glandula submandibularis nach 3 Tagen der Abbindung auf ein Minimum abgesunken. Ähnliche Ergebnisse hat Mantioli (55) veröffentlicht. Wir gingen von der Überlegung aus, daß es bei Gangunterbindung schon früh zu einer Abnahme der Fermentaktivität kommt, weil die sekretbildenden Zellen der Inaktivitätsatrophie unterliegen. Wir bestätigen also, daß es bereits nach 3 tägiger Unterbindung des Drüsenausführungsganges zu einer eindrucksvollen Verminderung der Aktivität des Kallikreins kommt. Wir konnten sogar durch Untersuchung des Kallikreingehaltes feststellen, ob die angelegte Ligatur einwandfrei war, da schon nach eintägiger Unterbindung eine Abnahme der Kallikreinwerte zu verzeichnen war. Auch die Transaminaseaktivität nahm mit der Dauer der Unterbindung ständig ab, allerdings wurde hier erst nach 10 Tagen das Minimum erreicht. Die Amylaseaktivität wurde durch die Unterbindung des Ausführungsganges nur wenig beeinflusst.

Demgegenüber zeigte sich bei der Unterbindung der korrespondierenden, nicht unterbundenen Drüse, daß die Aktivität aller Fermente, mit Ausnahme der Amylase, im Vergleich zur abgebundenen ansteigt. Besonders stark vermehrt war hierbei die Aktivität des Kallikreins. Die Zunahme der Fermentaktivität dürfte sich durch die Mehrdurchblutung, bzw. durch die Aktivitätshypertrophie der intakt gebliebenen Drüse erklären lassen.

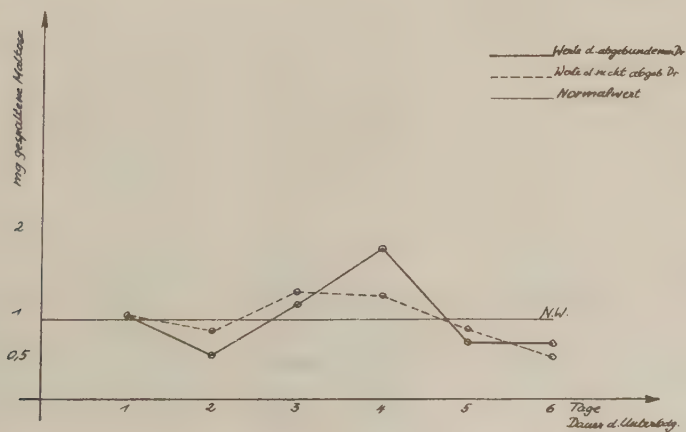
IV. UNTERSUCHUNG VON DRÜSEN, DEREN AUSFÜHRUNGSGANG NUR VORÜBERGEHEND UNTERBUNDEN WORDEN WAR

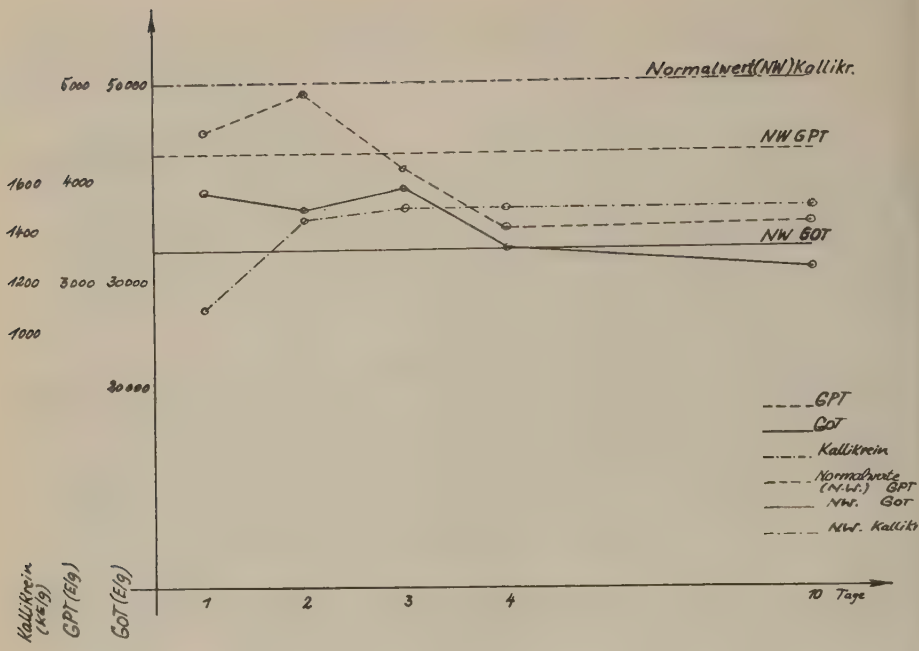
a) Versuchsanordnung

Da wir bei den Tieren dieser Versuchsreihe den Ausführungsgang der Drüse wieder freigeben wollten, haben wir keine Seidenligatur zur Unterbindung verwendet, sondern sterile Metallklammern, die wir am Ausführungsgang anbrachten. Anschließend wurde die Wunde wie beschrieben verschlossen. Zum Lösen der Ligatur war dann nur ein kleiner Eingriff notwendig, da die Metallklammern im Gewebe leicht auffindbar und entfernbar waren. Es wurde die Drüse einen Tag lang unterbunden, dann wurde die Unterbindung gelöst und die Drüse noch einen Tag in situ belassen. Danach wurde die Drüse entfernt. Wenn die Drüse zwei Tage unterbunden war, wurde sie nach weiteren zwei Tagen erst extirpiert usw.



Untersuchung des Fermentgehaltes in Drüsen nach Unterbindung des ductus Whar-
toni. Fermentgehalt in den Drüsen der unterbundenen Seite.
Transaminasen und Kallikrein obere Kurve. Amylaseaktivität untere Kurve
(unterbundene und nicht unterbundene Seite)





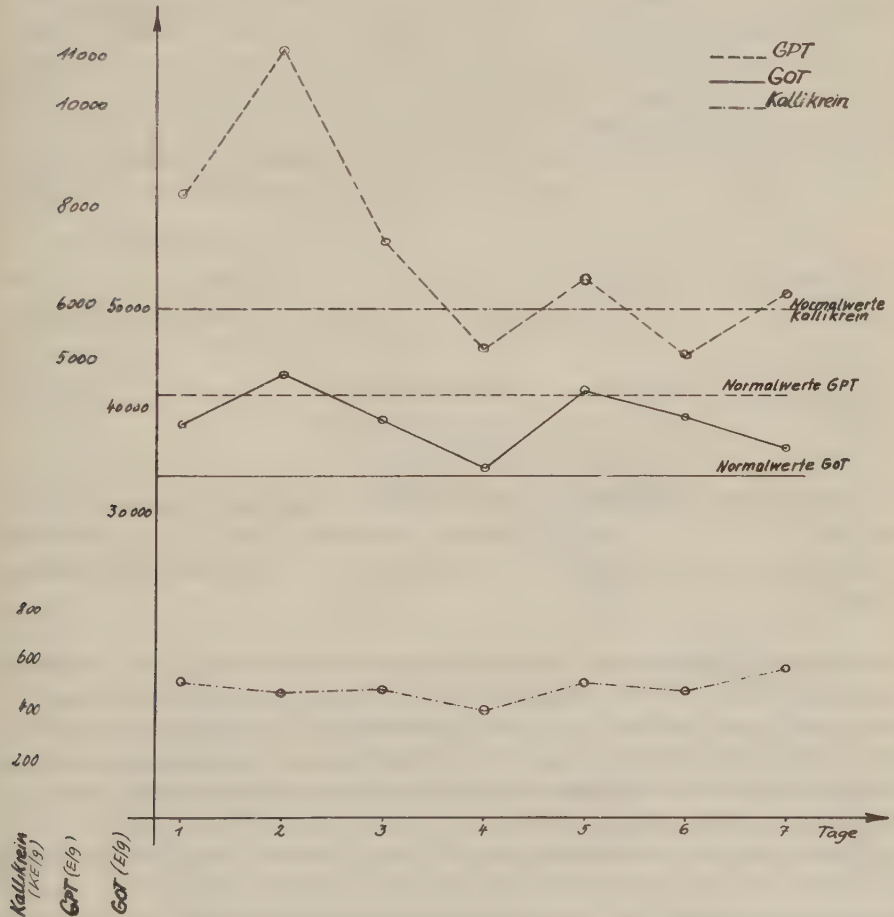
Untersuchung des Fermentgehaltes in Drüsen nach Gangunterbindung
 Fermentgehalt- Transaminasen, Kallikrein in den Drüsen der nicht unterbundenen,
 kontralateralen Seite

b) Untersuchungsbefunde

Drüsenge- wicht i. mg.	Unterbindungs- dauer vor Lö- sen d. Ligatur	GOT (E/g)	GPT (E/g)	Kallikrein (KE/g)
241 (271)	1	27800 (34150)	4386 (9450)	150 (1000)
157 (330)	1	29900 (41600)	3025 (7330)	100 (1600)
194 (367)	2	24550 (46200)	4780 (10930)	100 (1200)
180 (198)	2	22200 (40100)	3980 (12280)	300 (1200)
156 (155)	3	22700 (42150)	3705 (7560)	100 (1500)
105 (310)	3	27700 (36000)	5670 (7050)	60 (1050)
115 (387)	4	17130 (33000)	2325 (3967)	400 (1000)
084 (248)	4	16900 (31250)	2645 (6510)	200 (1000)
075 (183)	5	18280 (32200)	3210 (6250)	100 (1550)
107 (155)	5	21850 (52400)	2900 (5040)	300 (1000)
157 (169)	6	18900 (39000)	2835 (5040)	100 (1200)
060 (184)	7	12200 (33650)	2268 (7240)	70 (1300)
076 (209)	7	15600 (39600)	2135 (5670)	50 (1600)

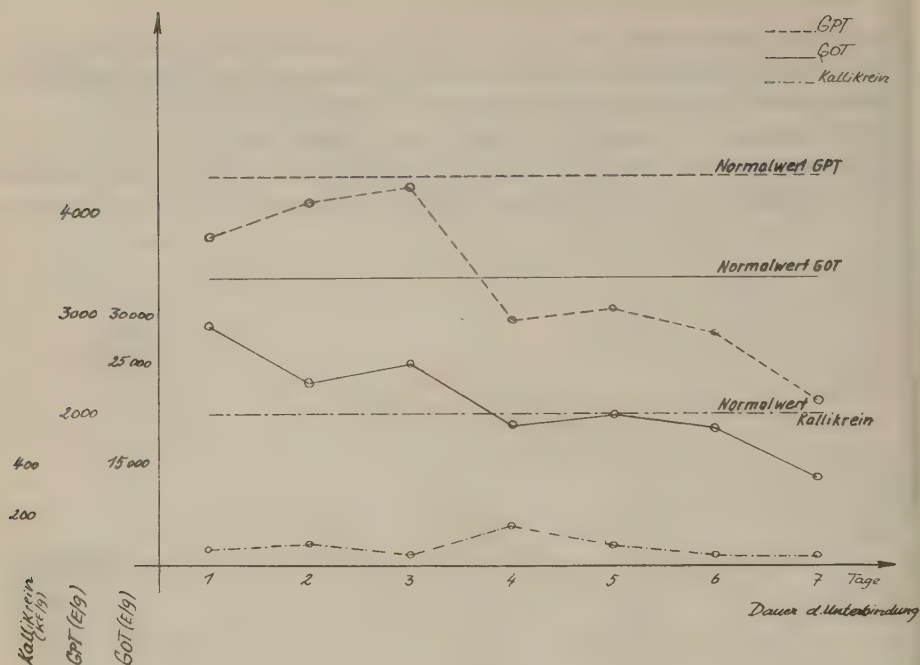
c) Erläuterung der Befunde und Diskussion

Sinn dieser Versuchsreihe war es, festzustellen, inwieweit eine Drüse fähig ist, sich nach einer Unterbindung wieder zu erholen; ferner wie lange die Unterbindung bestehen kann, ohne daß das Drüsengewebe irreversibel geschädigt wird. Hierbei konnten wir feststellen, daß nach einer Unterbindung, die ein bis drei Tage gedauert hat, die Drüse sich wieder erholen kann, da erst nach vier Tagen eine stärkere Abnahme der Transaminaseaktivität zu verzeichnen war. Allerdings scheint



Untersuchung von Drüsen, deren Ausführungsgang nur vorübergehend unterbunden worden war.

nicht abgebundene, kontralaterale Seite, Fermentaktivität der Transaminasen und des Kallikreins



Untersuchung von Drüsen deren Ausführungsgang vorübergehend unterbunden worden war

Fermentaktivität-Transaminasen und Kallikrein- in den Drüsen der abgebundenen Seite

es auch nach sehr kurzer Unterbindungszeit zu einer gewissen Parenchymschädigung zu kommen, da der Kallikreingehalt der Drüsen schon nach eintägiger Unterbindung stark abgesunken war. In der korrespondierenden, nicht unterbundenen Drüse zeigte sich in der ersten Zeitspanne (1-3 Tage) eine stark schwankende Enzymaktivität, was aber sicher teilweise auf gewisse Ungenauigkeiten bei der Auswertung biologischer Tests zurückzuführen ist.

Auffallend ist, daß der Kallikreingehalt in den nicht operierten Drüsen im Vergleich zu Versuch III nicht entsprechend hoch war, was vielleicht dahin gedeutet werden kann, daß nach Lösen der Ligatur der unterbundenen Drüse die Hypertrophie der gesunden Drüse ausbleibt.

V. ZUGABE VON Co-FERMENT (PYRIDOXALPHOSPHAT) ZU DRÜSENHOMOGENATEN UNTERBUNDENER DRÜSEN

a) Versuchsanordnung

Wir haben zu diesem Versuch die Unterkieferspeicheldrüsen von Ratten vier bis sieben Tage unterbunden und anschließend die Entfernung der Drüsen durchgeführt. Die Drüsen wurden dann gewogen und im Mörser mit Seesand wie beschrieben zerrieben. Das Homogenat stellten wir aber nicht mit dem zehnfachen Volumen aqua bidest., sondern mit einer 10^{-6} molaren Lösung von Pyridoxalphosphat her.

In gleicher Weise wurden Homogenate von abgebundenen als auch von kontralateralen, nicht abgebundenen Drüsen mit Pyridoxalphosphatlösung hergestellt und untersucht. Außerdem haben wir in Kontrollansätzen Homogenate normaler Drüsen mit dieser Lösung hergestellt, um Normalwerte zu erhalten, auf die die Werte der untersuchten Versuchstiere bezogen werden konnten.

b) Versuchsergebnisse

Drüsenge- wicht i. mg	Dauer d. Abbindg. in Tagen	GOT(E/g)	GPT(E/g)	Kallikrein (KE/g)
180 (152)	4	13620 (54300)	1560 (9120)	150 (2000)
180 (116)	5	13230 (51800)	2305 (7250)	30 (1000)
160 (142)	6	15900 (45200)	2235 (6810)	100 (1800)
210 (230)	7	12200 (38750)	1420 (5030)	40 (3000)

Kontrollansatz mit nicht unterbundenen normalen Drüsen:

360	0	22500	4725	2800
270	0	19700	5105	1600

In Klammern gesetzt jeweils die korrespondierende, nicht unterbundene Drüse.

c) Erläuterung der Befunde und Diskussion

Wir haben diesen Versuch durchgeführt um festzustellen, ob bei der Unterbindung des Drüsenausführungsganges und der damit verbundenen Parenchymschädigung es zuerst zu einem Mangel an Co-Enzym kommt; und ob es möglich ist, durch Zuführung von Co-Enzym zum Homogenat die Fermentaktivität der Norm wiederherzustellen.

Aus dem durchgeführten Kontrollansatz war ersichtlich, daß bei einer normalen Drüse die Zuführung des Co-Fermentes, zumindest in der von uns gewählten Konzentration, keine Steigerung der Fermentaktivität hervorruft. Auf diese Tatsache haben schon O' Kane und Gunsalus (56) hingewiesen.

Nach viertägiger Unterbindung führte die Zugabe von Co-Ferment nicht zu einem Anstieg der Transaminasenaktivität. Dagegen stieg bei den nicht unterbundenen Drüsen durch die Zugabe von Co-Ferment die Fermentaktivität gut meßbar an.

Daraus kann geschlossen werden, daß bei der durch die Unterbindung bzw. Ausschaltung einer Drüse und der damit verbundenen Aktivitätshypertrophie der nicht unterbundenen Drüse die Versorgung mit Co-Ferment hinter der Synthese des Apoenzyms deutlich zurückbleibt.

VI. UNTERSUCHUNGEN DER FERMENTAKTIVITÄT BEI RATTEN WÄHREND EINER HUNGERPERIODE UND NACH ANSCHLIESSENDER FÜTTERUNG

a) Versuchsanordnung

Zur Durchführung dieser Versuche haben wir Ratten 48 Stunden hungern lassen, wobei den Tieren Wasser ad libitum zur Verfügung stand. Anschließend haben wir die Unterkieferspeicheldrüsen entfernt und untersucht.

Gleichzeitig haben wir Ratten 48 Stunden hungern lassen und dann 30 min Standardfutter ad libitum gegeben, worauf wir auch bei diesen Tieren die Drüsen entfernt und untersucht haben.

b) Versuchsergebnisse

Drüsenge- wicht i. mg	Fütterung	GOT(E/g)	GPT(E/g)	Amylasenaktivität		Kallikrein- gehalt KE/g
				mg gesp.	Extinkt.	
				Maltose		
305	ohne	32100	5670	2,050	0,305	2500
308	ohne	31200	4720	1,975	0,295	2000
313	ohne	22700	6620	1,800	0,270	2000
363	mit	66700	7090	5,360	0,825	1600
335	mit	75600	9720	4,450	0,670	2000
380	mit	56700	9630	5,850	0,900	1800

c) Erläuterung der Befunde

Wir stellten fest, daß in den Drüsen der nach dem Hungern gefütterten Tiere der Transaminasegehalt viel höher lag als in den Drüsen der Hunger-Tiere, die vor der Entfernung der Drüsen kein Futter mehr erhalten hatten. Besonders stark war die Aktivität der GOT vermehrt; und zwar auf etwa das Doppelte des Wertes der ruhenden Drüse. Auch die Untersuchung der Amylase ergab einen Anstieg der Aktivität nach der Fütterung.

d) Diskussion

Es kommt bei der durch die Nahrungsaufnahme bedingten Mehrdurchblutung des Drüsenparenchyms zu einer Steigerung des Stoffwechsels und zur stärkeren Synthese von Fermenten, was wir aus der höheren Enzymaktivität in Drüsen nach Fütterung schließen können. Der Anstieg der Fermentaktivität dürfte nicht auf einen einfachen Diffusionsvorgang zwischen Blut und Parenchym zurückzuführen sein, bei dem die Transaminasen des Blutplasmas in das Drüsenparenchym übertreten, da Dreizen und

Stone (57) keinen Zusammenhang zwischen Transaminasewerten im Serum und im Speichel feststellen konnten.

Wie bereits von Lesser (33) beschrieben, ist der Gehalt an Amylase in der Unterkieferspeicheldrüse im Vergleich zu Parotis und Pankreas sehr niedrig und steigt bei normaler Fütterung an. Schneyer (34, 35, 58) hat festgestellt, daß die Amylaseaktivität bei Fütterung um das 3-6 fache ansteigt, wobei der Serumgehalt weit überschritten wird. Wir haben einen Anstieg der Amylase nur auf das 2-3 fache des Ruhewertes feststellen können. Die Zunahme der Amylaseaktivität ist wahrscheinlich nicht der Aktivierung einer Vorstufe oder dem steigendem Gehalt von Amylase im Blutserum zuzuschreiben, sondern einer Ansammlung und Neubildung in der Drüse als aktive Leistung des Parenchyms. (Schneyer, 59)

Nach unseren Ergebnissen nimmt nach Fütterung der Kallikreingehalt in der Drüse etwas ab, er bleibt aber im Bereich der Schwankungsbreite der Norm. Es können daraus keine Rückschlüsse gezogen werden.

VII. UNTERSUCHUNG DER FERMENTAKTIVITÄT IN DER UNTERKIEFERSPEICHELDRÜSE NACH INJEKTION EINER SEKRETIONSFÖRDERNDEN SUBSTANZ (Lösung von Pilocarpinum nitricum 1%ig)

a) Versuchsanordnung

Vor Beginn der Versuche haben wir Ratten 12 Stunden hungern lassen. Dann erhielten die Tiere in jeweils 1/2 stdl. Abständen eine Injektion von 0,1 ml einer einprozentigen Lösung von Pilocarpinum nitr. subcutan in die Bauchhaut.

Wir führten unsere Versuchsreihe an jeweils 8 Tieren durch, wobei das erste Tier nach einer Injektion (also nach 30 min) getötet wurde, das zweite Tier nach zwei Injektionen (60 min) usw. Das letzte Tier erhielt insgesamt acht Injektionen und wurde nach 240 min getötet.

Die übrige Versuchsanordnung ist oben beschrieben worden.

b) Versuchsergebnisse

Drüsen- gewicht in mg	Zahl d. Injek- tionen, bzw. Zeit nach der d. SM entfernt wurde	GOT(E/g)	GPT(E/g)	Amylaseaktivität mg gesp. / Extinkt.		Kalli- krein- gehalt (KE/g)
413	1x (30 min)	49100	6420	7,250	1,134	2250
389		51400	8340	7,950	1,250	1400
418	2x (60 min)	68000	9450	6,225	0,963	2500
468		59700	10230	6,750	1,050	1500
379	3x (90 min)	56700	8610	5,825	0,894	2300
424		62600	10970	5,100	0,778	1700

Drüsen- gewicht in mg	Zahl d. Injek- tionen, bzw. Zeit nach der d. SM entfernt wurde	GOT(E/g)	GPT(E/g)	Amylaseaktivität mg gesp. / Extinkt.		Kalli- krein- gehalt (KE/g)
308	4x (120min)	56700	9070	5,025	0,765	3000
355		43800	9070	4,675	0,705	1900
333	5x (150min)	64200	6670	3,800	0,565	2500
385		49500	9640	3,150	0,471	1600
347	6x (180min)	45300	9450	1,000	0,150	1750
417		47250	10720	1,200	0,181	2000
397	7x (210min)	51000	8130	1,100	0,165	2000
388		51000	8510	0,825	0,125	1800
370	8x (240min)	34030	7560	1,500	0,225	2000
375		45300	8130	1,050	0,160	1500

c) Erläuterung der Befunde

Wir haben 2 Versuchsreihen mit insgesamt 16 Tieren durchgeführt. Bereits nach der ersten Injektion setzte bei den Versuchstieren starke Sekretion eines dünnflüssigen Speichels ein. Die Tiere zeigten außer einer gewissen Unruhe keine Allgemeinreaktion auf die Injektion von Pilocarpinlösung.

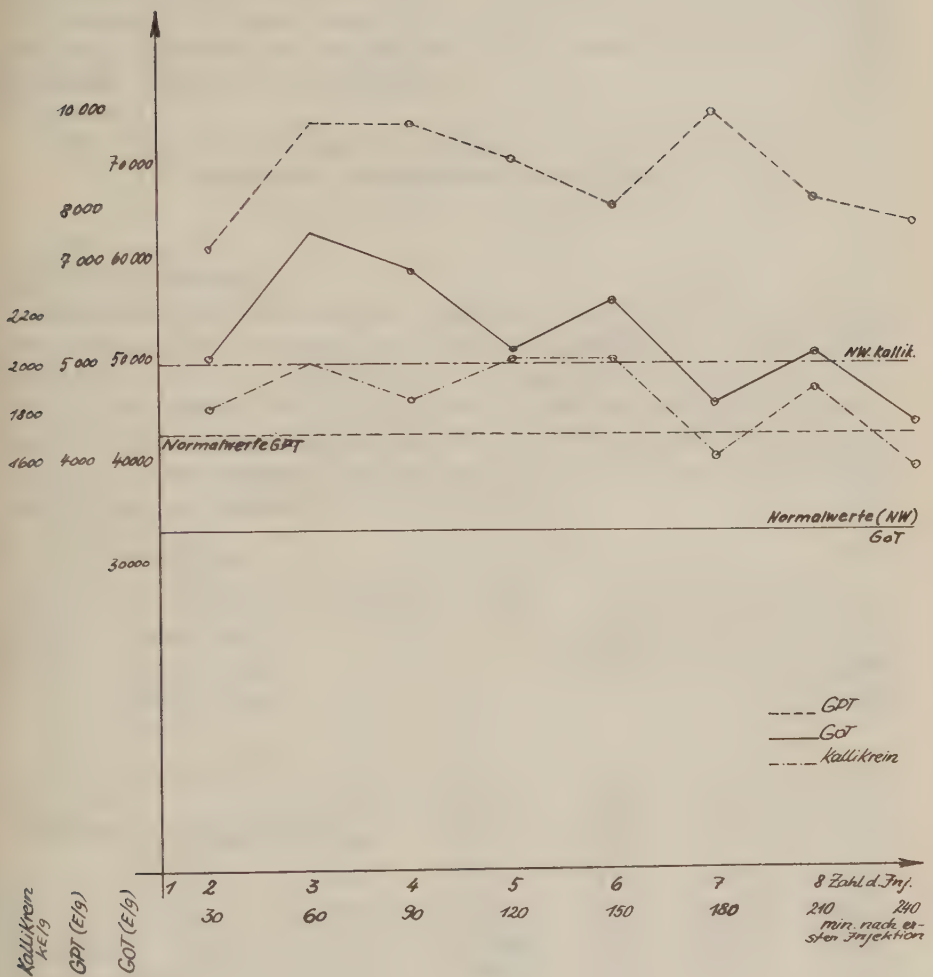
Bei der Untersuchung der Transaminaseaktivität ergab sich eine Erhöhung der GOT sowie der GPT gegenüber den Ruhewerten (GOT stieg um 90%, GPT um 47%), wobei die höchste Fermentaktivität nach 60 Minuten erreicht war und dann wieder etwas zurückging.

Die Aktivität der Amylase erreichte bereits nach 30 Minuten ihren höchsten Wert (der Anstieg gegenüber dem Normalwert betrug 732%), um dann langsam wieder abzunehmen. Schon Lesser (33) hat auf die gesteigerte Amylaseaktivität in Ratenspeicheldrüsen nach Reizung mit Pilocarpin und Adrenalin hingewiesen. Die Kallikreinwerte waren nicht über die Norm erhöht.

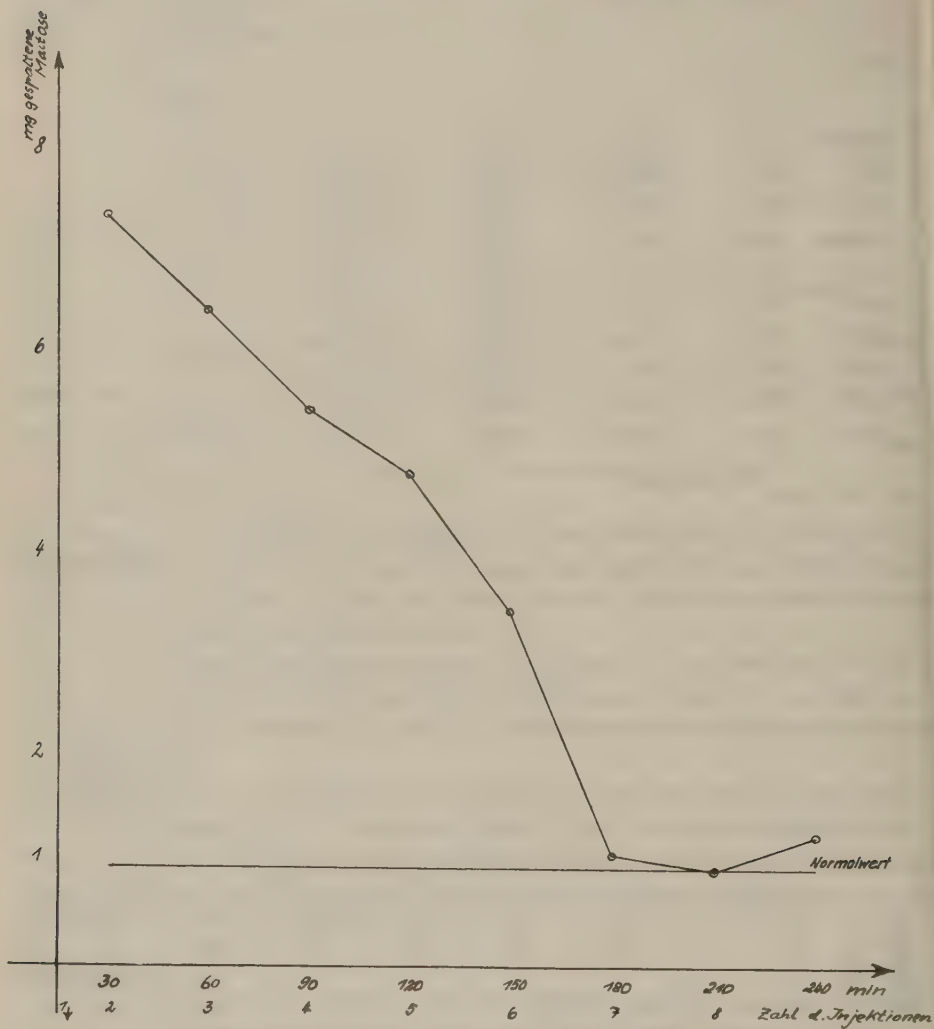
d) Diskussion

Wir haben bei unseren Versuchen bereits nach 60 Minuten und Injektion von insgesamt 0,2 ml Pilocarpinlösung einen maximalen Anstieg der Transaminasewerte feststellen können. Anschließend sanken die Werte wieder etwas ab. Hieraus können wir schließen, daß auch eine weitere Anregung der Drüse zu keiner weiteren Steigerung der Fermentaktivität führt, da das Parenchym die Produktion offenbar nicht über einen bestimmten Wert hinaus steigern kann.

Die Kallikreinwerte verhalten sich hierbei genauso wie die Aktivität der Transaminasen, da man von den Ungenauigkeiten im Kurvenverlauf absehen muß, die ja zwangsläufig durch das individuelle Ansprechen der verschiedenen Versuchstiere auf die Injektion bedingt sind.



Untersuchung der Fermentaktivität in der Unterkieferspeicheldrüse nach Injektion einer sekretionsfördernden Substanz (Lösung von Pilocarpinum nitr. 1% ig)
 Fermentaktivität- Transaminasen, Kallikrein



Untersuchung der Fermentaktivität in der Unterkieferspeicheldrüse nach Injektion einer sekretionsfördernden Substanz (Lösung von Pilocarpinum nitr. 1% ig)
Amylaseaktivität

Die Prüfung der Amylaseaktivität ergab, daß anscheinend dieses Ferment anfangs schneller synthetisiert werden kann als die Transaminasen. Vielleicht beruht die rasche Steigerung der Amylaseaktivität auf einer Umwandlung eines gespeicherten Proenzym. Der höchste Wert war bereits nach 30 Minuten erreicht. Danach nahm die Amylaseaktivität ziemlich rasch ab und erreichte nach 210 Minuten einen Punkt, der im Bereich der Norm lag.

VIII. UNTERSUCHUNG DER FERMENTAKTIVITÄT NACH INJEKTION EINER SEKRETIONSHEMMENDEN SUBSTANZ (Lösung von Atropinum sulf. 0,5%)

a) Versuchsanordnung

Zur Durchführung dieser Versuchsreihe injizierten wir Ratten, die vorher 12 Stunden gehungert hatten, jeweils 0,1 ml einer 0,5% igen Lösung von Atropinum sulfuricum subcutan unter die Bauchhaut. Wir wiederholten die Injektionen nach 30 min, dann nach 60 min usw. Die Injektionen erfolgten also in einem Zeitabstand von 30 min, wobei das erste Tier schon nach einer Injektion (30 min), das zweite nach zwei Injektionen (60 min) getötet wurde, usw. Das letzte Tier wurde nach 180 min und insgesamt 6 Injektionen getötet.

b) Versuchsergebnisse

Drüsen- gewicht in mg	Zahl d. Injek- tionen, bzw. Zeit nach der d. SM entfernt wurde	GOT(E/g)	GPT(E/g)	Amylaseaktivität mg gesp. / Extinkt. Maltose	Kalli- krein- gehalt (KE/g)	
300	1x (30 min)	35900	17230	2,175	0,325	1200
362		34400	24100	2,400	0,362	2500
382	2x (60 min)	31900	19070	1,825	0,275	1600
430		37800	21700	2,000	0,300	3000
260	3x (90 min)	29100	17480	1,825	0,275	1600
396		50800	23700	1,9000	0,280	2100
367	4x (120min)	33100	18960	2,675	0,400	2000
430		40600	23600	2,875	0,430	1800
400	5x (150min)	40400	20800	2,650	0,395	1800
410		51600	23600	2,750	0,410	2000
296	6x (180min)	37800	19840	2,000	0,300	2200
359		44800	23600	1,750	0,260	2400

c) Erläuterung der Befunde

Es zeigte sich, daß bereits nach der ersten Injektion die Fermentaktivität zum Teil sehr stark zugenommen hatte. Bis zum Ende des Versuchs nach 180 min veränderte

sich die Aktivität der einzelnen Fermente nicht mehr wesentlich und blieb etwa auf gleichem Niveau. Die GPT zeigte eine starke Zunahme der Aktivität (um 284%) im Gegensatz zur GOT, die gegenüber dem Normalwert (33499 E/g) keine signifikante Zunahme aufwies. Auch war der Kallikreingehalt der Drüsen nur ganz gering gesteigert. Bei der Untersuchung der Amylase konnten wir eine Steigerung der Aktivität um 150% feststellen. Allgemein reagierten die Versuchstiere auf die Injektion von Atropinlösung mit Unruhe, anschließender Schläfrigkeit und Versiegen der Speichelsekretion.

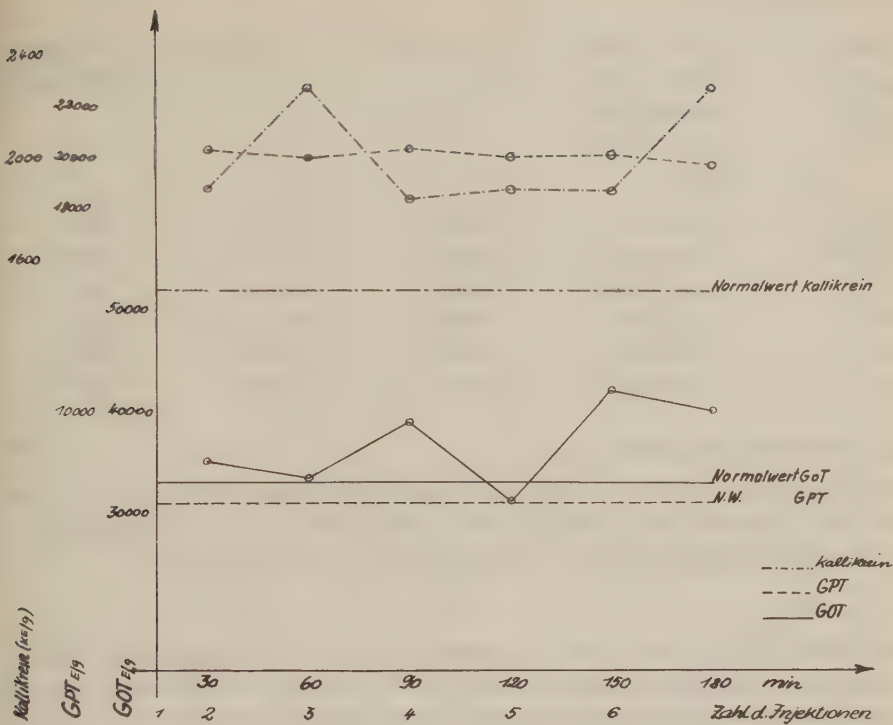
d) Diskussion

Wir haben versucht, anhand der durchgeführten Versuche festzustellen, inwieweit eine Hemmung der Speichelsekretion durch Atropin (Secker, 10) eine Änderung des Fermentgehaltes im Drüsenparenchym hervorruft. Wir nahmen an, daß es auf Grund der Hemmung der Speichelsekretion zu einer allgemeinen Verringerung der Fermentaktivität in der Drüse kommt. Das war aber nicht der Fall: die Amylase und die GPT zeigten eine stärkere Zunahme der Aktivität, wogegen die GOT-Aktivität und der Kallikreingehalt dem einer ruhenden Drüse etwa entsprachen. Wie wir in den Versuchen VI und VII festgestellt haben, kommt es bei Anregung der Speichelsekretion, sei es durch Nahrungsaufnahme oder pharmakologische Reizung zu einem starken Anstieg der GOT, wobei der Anstieg der GPT deutlich hinter dem der GOT zurückbleibt. Das deutet darauf hin, daß die GPT langsamer synthetisiert wird als die GOT. Andererseits haben wir bei Drüsen mit gehemmter Speichelsekretion umgekehrte Verhältnisse vorgefunden. Die hier festgestellte hohe GPT-Aktivität bei nur gering bzw. überhaupt nicht erhöhten Werten für GOT läßt eine unterschiedliche Abhängigkeit dieser Fermente von der Speichelsekretion bzw. von der Durchblutung des Parenchyms erkennen.

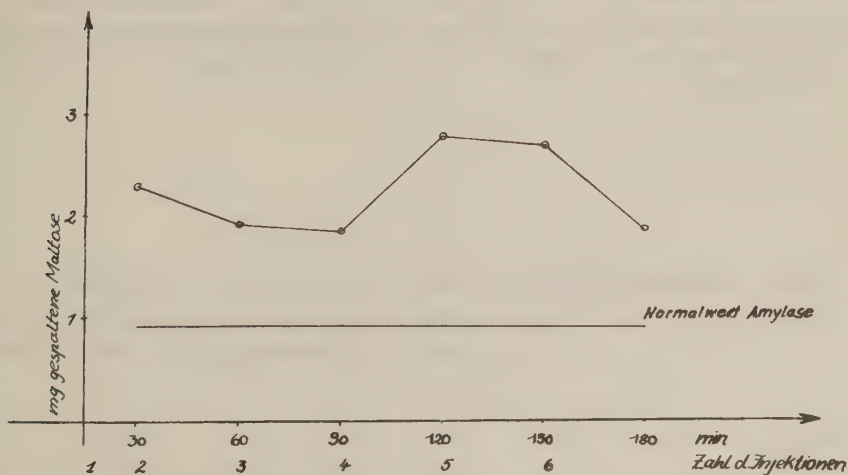
IX. UNTERSUCHUNG DER FERMENTAKTIVITÄT NACH INJEKTION HOHER DOSEN VON ATROPINUM SULFURICUM 5,0%

a) Versuchsanordnung

In dieser Versuchsreihe injizierten wir Ratten, die vorher 12 Stunden gehungert hatten, jeweils 0,1 ml einer 5% igen Lösung von Atropinum sulfuricum subcutan unter die Bauchhaut. Die weitere Versuchsanordnung wählten wir wie unter VIII beschrieben.



Untersuchung der Fermentaktivität nach Injektion einer sekretionshemmenden Substanz (Lösung von Atropinum sulf. 0,5% ig)
 Fermentaktivität- Transaminasen, Kallikrein s. oben
 Amylaseaktivität s. unten



b) Versuchsergebnisse

Drüsen- gewicht in mg	Zahl d. Injek- tionen, bzw. Zeit nach der d. SM entfernt wurde	GOT (E/g)	GPT (E/g)	Kallikrein- gehalt(KE/g)
405	1x (30 min)	49200	20100	2400
365	2x (60 min)	47250	-----	2600
420	3x (90 min)	49200	18600	1500
398	4x (120min)	49200	18900	2400
283	5x (150min)	47250	19840	2800
358	6x (180min)	32100	17570	2600

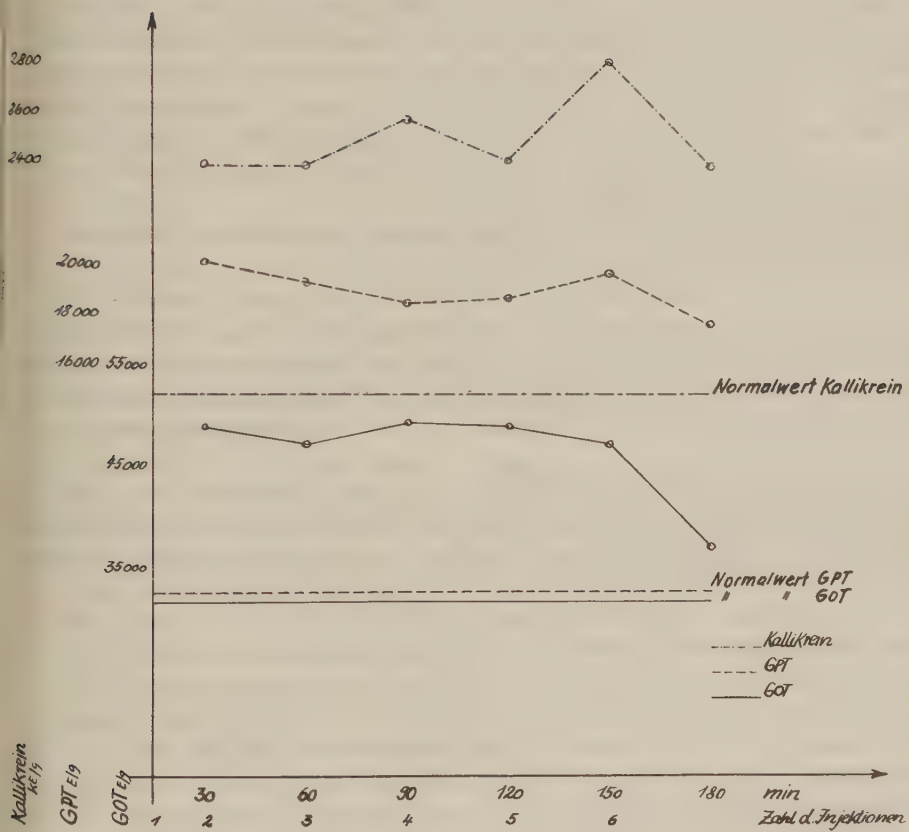
c) Erläuterung der Befunde

Wir stellten bereits nach der ersten Injektion (30 min) einen Anstieg der GOT und GPT fest. Die GOT nahm nach 150 min wieder ab und erreichte den normalen Wert. Die GPT blieb erhöht. Der Kallikreingehalt war mäßig erhöht.

d) Diskussion

Wir haben in Fortführung unserer Versuche nunmehr die zehnfache Dosis Atropinlösung unseren Versuchstieren verabreicht um zu prüfen, ob durch höhere Dosierung eine weitere Beeinflussung der Fermente zu erreichen ist. Hierbei konnten wir eine wesentliche Steigerung der Fermentaktivität nur bei der GOT (um 43%) feststellen; auch war der Gehalt an Kallikrein erhöht (um 44%). Die GPT war im Vergleich zum vorhergehenden Versuch nicht vermehrt. Die Zunahme der Aktivität gegenüber dem Normalwert betrug 200%.

Wir konnten feststellen, daß es schon bei Verwendung von 0,5%iger Atropinlösung in angegebener Dosierung zu einer starken Beeinflussung des Drüsenparenchyms kommt. - Es ist aber möglich, durch entsprechend höhere Dosierung einen teilweisen Anstieg der Fermentaktivität auf noch höhere Werte zu erreichen.



Untersuchung der Fermentaktivität nach Injektion einer sekretionshemmenden Substanz (Lösung von Atropinum sulf. 5,0% ig)

Fermentaktivität- Transaminasen, Kallikrein

ZUSAMMENFASSUNG

Einleitend wurden Versuche durchgeführt, die der Ermittlung von Normal- bzw. Ausgangswerten der Fermentaktivität von Transaminase (GOT, GPT), Amylase und Kallikrein in Unterkieferspeicheldrüsen von Ratten dienten. Wir untersuchten hierzu die Drüsen normaler Ratten und solcher, bei denen wir in Nachahmung der Versuchsanordnung Scheinoperationen durchgeführt hatten. Die Mittelwerte betrugen bei normalen Drüsen für GOT 334 ± 270 E/g, für GPT 6680 ± 681 E/g, für Kallikrein 1450 ± 226 KE/g. Die Amylaseaktivität betrug im Mittel $0,912 \pm 0,238$ mg gespaltene Maltose pro ml Ansatzlösung.

Die Mittelwerte bei manipulierten Drüsen betrugen für GOT 33846 ± 3930 E/g, für GPT 4310 ± 328 E/g und für Kallikrein 2200 ± 140 KE/g.

Danach wurde das Verhalten der Fermente bei Unterbindung des ductus Whartoni untersucht. Hierbei wurde festgestellt, daß es schon nach 3 tägiger Unterbindung des Drüsenausführungsganges zu einer auffallenden Verminderung der Aktivität des Kallikreins kam. Die Abnahme betrug etwa 80%. Das Minimum der Transaminaseaktivität war erst nach etwa 10 Tagen erreicht. Die Amylaseaktivität war nur wenig beeinflusst.

Ergänzend hierzu wurde in einer weiteren Versuchsreihe festgestellt, wie lange der Ausführungsgang unterbunden werden kann, ohne daß es zu einer irreversiblen Schädigung der Drüse und damit der Fermentproduktion kommt. Die unterbundene Drüse erholte sich, wenn die Unterbindung nicht länger als 3 Tage gedauert hatte. Erst am 3. Tag kam es nämlich zu einer stärkeren Abnahme der Transaminaseaktivität. Als Ausdruck einer gewissen Parenchymschädigung war zu werten, daß der Kallikreingehalt der Drüse schon nach eintägiger Unterbindung abgesunken war. Desweiteren haben wir geprüft, ob die Apo-Enzyme der Transaminase physiologischerweise mit Co-Enzym abgesättigt sind. Hierbei stellten wir fest, daß bei normalen Drüsen die Zuführung des Co-Fermentes keine Steigerung der Fermentaktivität hervorruft. Dagegen stieg bei den nicht unterbundenen, korrespondierenden Drüsen die Fermentaktivität nach Zugabe von Co-Ferment gut meßbar an. Daraus kann geschlossen werden, daß bei der Aktivitätshypertrophie nach Unterbindung des Ausführungsganges der kontralateralen Drüse die Versorgung mit Co-Ferment hinter der Synthese des Apoferments deutlich zurückbleibt.

In einer anderen Versuchsreihe untersuchten wir die Drüsen von Tieren, die nach 48 stündigem Hungern, bzw. im Anschluß an eine Fütterung getötet worden waren. Es wurde festgestellt, daß bei Tieren, die gefüttert worden waren, der Transaminasegehalt viel höher lag als in den Drüsen der Hunger-Tiere, die vor der Drüsenentfernung kein Futter erhalten hatten. Die Erhöhung der Aktivität betrug 135% bei GOT und 36% bei GPT. Auch die Untersuchung der Amylase ergab einen Anstieg der Aktivität nach der Fütterung um 150%.

Abschließend wurden den Versuchstieren sekretionsfördernde bzw. sekretionshemmende Substanzen in bestimmten Abständen injiziert und anschließend der Fermentgehalt in den Drüsen der Tiere untersucht. Bei der Injektion einer Lösung von Pilocarpinum nitricum (1,0%ig) konnten wir feststellen, daß die Transaminaseaktivität gegenüber den Ruhewerten erhöht ist; (GOT zeigte eine Steigerung um 90%, GPT um 47%) ebenso wie die Amylaseaktivität, die gegenüber der Norm um 732% erhöht war. Die Kallikreinwerte waren nicht über die Norm erhöht.

Da der maximale Anstieg der Fermentaktivität bereits nach wenigen Injektionen eintrat, können wir annehmen, daß selbst eine weitere Anregung der Drüse zu keiner weiteren Steigerung der Fermentaktivität führt, da das Parenchym die Produktion offenbar nicht über einen bestimmten Wert hinaus steigern kann.

Bei der Injektion einer Lösung von Atropinum sulfuricum (0,5% und 3,0%) als sekretionshemmende Substanz, die ebenfalls in bestimmten Abständen verabreicht wurde, ergab die Untersuchung, daß die Aktivität der Transaminase GPT um rd. 200%, die der GPT um 43% erhöht war. Die Amylaseaktivität war um 150% erhöht, der Kallikreinreingehalt um 44%.

Es kommt bei der Anregung der Speichelsekretion durch pharmakologische Reizung zu einer starken Vermehrung der Transaminasen, wobei der Anstieg der GPT hinter dem der GOT zurückbleibt. Das deutet darauf hin, daß die GPT langsamer synthetisiert wird als die GOT.

Andererseits haben wir bei Drüsen mit gehemmter Speichelsekretion umgekehrte Verhältnisse vorgefunden. Die hier festgestellte hohe GPT-Aktivität bei nur gering erhöhten Werten für GOT läßt eine unterschiedliche Abhängigkeit dieser Fermente von der Speichelsekretion bzw. von der Durchblutung des Parenchyms erkennen.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Werle, E. R. Vogel und J. Lentrodt Arch. int. pharmacodyn.
126, 187, 1960
2. Neubauer, O. Dtsch. Arch. kl. Med.
95, 211, 1909
3. Knoop, F. Hoppe-Seylers Zschr. physiol. Chem.
67, 489, 1910
4. Needham, J. W. Biochem. J. London
24, 208, 1930
5. Braunstein, A. und E. Kritzmann Enzymologia 2, 129, 1937/38
6. Camerata, P. S. und P. P. Cohen J Biol. Chem. 187, 439, 1950
7. Braunstein, A. und E. Kritzmann Nature 140, 503, 1937
8. Awipara, J. und P. Seale J. Biol. Chem. Baltimore
194, 497 1952
9. Tanenbaum, S. J. Biol. Chem. 218, 733, 1956
10. Secker, J. J. Physiol. 82, 293, 1934
11. Cohen, P. P. und G. L. Hekens J. Biol. Chem. 140, 111, 1941
12. Karmen, A. F. und F. Wroblewski Clin. Invest. 34, 126, 1957
13. La Due, J. S. und F. Wroblewski Science 120, 457, 1954
14. Conrad, G. F. New England J. Med.
256, 602, 1957
15. Cohen, P. P. Sumner und Myrbäck The Enzymes, Acad. Press N. Y.
104, 1951/1
16. Wroblewski, F. und J. S. La Due Cancer 8, 1155, 1955
17. Dies, O. Ann. Int. Med. 43, 345 1955
18. Dies, O. dto. 45, 810, 1956
19. Ames, S. R. und C. A. Elvehjam J. Biol. Chem. 166, 81, 1946
20. Nydick, I. Wroblewski F. und J. S. La Due Circulation 12, 161, 1955
21. Schlenk und Snell J. Biol. Chem. Balt.
157, 425, 1945

22. Lichstein, Gunsalus und Umbreit	J. Biol. Chem. Balt.	161,	311,	1945
23. Green, Leloir und Nekito	J. Biol. Chem. Balt.	161,	559,	1945
24. Leuchs, P.	Poggendorfs Ann. d. Phys. Chem.	22,	623,	1831
25. Payen und Persoz	Ann. Chem. Phys.	53,	73,	1833
26. Meyer, K. H.	Naturwissenschaften	28,	387,	1940
27. Meyer, K. H.	Adv. Colloid. Sci.	1,	143,	1942
28. Kuhn, O.	Liebigs Ann. Chem.	443,	1,	1925
29. Ohlson, H.	Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem.	189,	17,	1930
30. Meyer, K. H.	Angew. Chem.	63,	153,	1951
31. Willstätter und Rohdewald	Hoppe-Seylers Zschr.	203,	189,	1931
32. Willstätter und Rohdewald	dto.	189,	13,	1933
33. Lesser	Biochem. Zschr.	184,	125,	1927
34. Schneyer, L. H. und C. A. Schneyer	Am. J. Physiol.	189,	129,	1957
35. Schneyer, C. A. und L. H. Schneyer	dto.	193,	1,	1958
36. Kraut, H. Frey, E. K. Werle, E. und Schultz, F.	Z. physiol. Chem.	230,	259,	1934
37. Kiyoshi Tameda	Fol. endocrinol. Japon.	27,	285,	1952
38. Hochrein, M. und J. Keller	Arch. exp. Path. und Pharm.	159,	438,	1931
39. Frey, E. K. und H. Kraut	Arch. exp. Path. u. Pharm.	133,	1,	1928
40. Frey, E. K. Werle, E. und E. Sackers	Z. ges. exp. Med.	96,	404,	1935
41. Keller, J.	Arch. exp. Path. und Pharm.	154,	357,	1930
42. Frey, E. K.	Arch. Klin. Chem.	142,	663,	1926

43. Werle, E.	Biochem. Zschr.	290,	129,	1937
44. Werle, E. und P. von Roden	Biochem. Zschr.	286,	213,	1936
45. dto.	dto.	301,	329,	1939
46. Coranyi, A. Szennes, T. und B. G. Hatz	Dtsch. med. Wschr.	I,	55,	1937
47. Auerbach, V. H. und H. A. Waißman	J. Biol. Chem.	234,	304,	1959
48. Farris and Griffeth	The Rat in the Laboratory Investigation	29,		1949
49. Ellenberger und Baum,	Handbuch der vergleichenden Anatomie der Hauswirbeltiere S. 1911			
50. Stetter	Angew. Chem.	63,	181,	1951
51. Noelting, G. und G. Berndorf	Meth. of. Enzymology NY.	1,	159,	1955
52. Sumner, J. B. und S. F. Howell	J. Biol. Chem.	108,	51,	1935
53. Rein, H. und D. Schneider	Klin. Wschr.	870,		1934
54. Lentrodt, J.	Med. Diss. München			1959
55. Matioli	Arch. Physiol.			1946
56. O' Kane und I. C. Gunsalus	J. Biol. Chem.	170,	425,	1947
57. Dreizen, S. und R. E. Stone	Proc. Soc. Exp. Biol. NY.	102,	449,	1959
58. Schneyer, L. H. und C. A. Schneyer	Am. J. Physiol.	198,	771,	1960
59. Schneyer, C. A. und L. H. Schneyer	dto.	187,	403,	1956

LEBENS LAUF

Ich, Peter Fuchs, wurde am 6. Dezember 1933 als Sohn des Dr. jur. Heinrich Fuchs und seiner Gattin Lucie, geborene Englisch, in Frankfurt am Main geboren. Meine Jugend verbrachte ich in Berlin-Lankwitz und während des Krieges in Bayern und Österreich. Nach Kriegsende besuchte ich in Berlin-Lankwitz die dortige Oberschule und nach der Übersiedlung meiner Eltern nach München im Herbst 1950 die Gisela-Oberrealschule und ab 1951 das Neue Realgymnasium, wo ich im Juli 1953 das Abitur bestand.

Im Wintersemester 1953/54 studierte ich an der Universität München Medizin und Zahnheilkunde und legte hier die zahnmedizinische und medizinische Vorprüfung ab. Im Sommersemester 1956 studierte ich in Heidelberg und im Wintersemester 1956/57 an der Universität Kiel, wo ich nach dem Wintersemester 1957/58 das zahnmedizinische Staatsexamen mit sehr gutem Erfolg bestand. In Kiel promovierte ich auch zum Dr. med. dent. Seit dem Wintersemester 1958/59 studierte ich wieder in München, wo ich nach dem Sommersemester 1959 das medizinische Staatsexamen mit sehr gutem Erfolg bestanden habe. Seither bin ich in München an verschiedenen Krankenhäusern als Medizinalpraktikant tätig.

